

| | |
|-------------|---|
| Title | Comprehensive Profiling of GPCR Expression in Ghrelin-producing Cells(Abstract_要旨) |
| Author(s) | Koyama, Hiroyuki |
| Citation | Kyoto University (京都大学) |
| Issue Date | 2016-05-23 |
| URL | https://doi.org/10.14989/doctor.k19887 |
| Right | |
| Type | Thesis or Dissertation |
| Textversion | ETD |

| | | | |
|--|---|-----|---------|
| 京都大学 | 博士（ 医 学 ） | 氏 名 | 小 山 博 之 |
| 論文 題目 | Comprehensive Profiling of GPCR Expression in Ghrelin-producing Cells (グレリン分泌細胞における GPCR 発現の網羅的解析) | | |
| (論文内容の要旨) | | | |
| <p>グレリンは成長ホルモン分泌促進因子受容体 (GHSR) の内因性リガンドとして同定された 28 アミノ酸からなるペプチドで、摂食亢進作用や脂肪蓄積作用など多彩な生理作用を有する。血中グレリン濃度は空腹時に上昇し、摂食後に低下するという日内変動を示す。また、血中グレリン濃度は BMI と逆相関を示すことが知られている。だが、グレリン分泌調節の詳細な機構は完全には解明されていなかった。今回、ホルモンの分泌調節に重要な役割を持つ G 蛋白共役型受容体(GPCR)に注目し、グレリン分泌調節における役割を検討した。</p> <p>グレリン分泌細胞株 MGN3-1 における GPCR 発現プロファイルを RNA シークエンスを用いて解析したところ 18 個の GPCR が FPKM 値 10 以上と高発現であった。このうち、リガンド入手可能な 12 個の受容体 (Gpr6, Adrb1, Gpr142, 7 Gpr81, Ptger4, Oxtr, Lgr4, Ffar4, Gper1, Chrm4, Ffar2, Sstr2) についてセカンドメッセンジャー(cAMP、Ca2+)およびグレリン分泌への影響を検討した。</p> <p>Gs 共役型では、既報にあるアドレナリンβ1 受容体(Adrb1)に加え、プロスタグランジン受容体 4 型 (Ptger4) のリガンドであるプロスタグランジン E2 (PGE2)が濃度依存的に細胞内 cAMP およびグレリン分泌を刺激した。PGE2 は胃粘膜を修復、保護に働くことが知られているが、PGE2 が胃におけるグレリン系の調節も担っている可能性が示唆された。</p> <p>Gi 共役型では、既報にあるソマトスタチン 2 型受容体(Sstr2)、乳酸受容体(GPR81)、鎖脂肪酸受容体(Ffar4)に加え、ムスカリン 4 型受容体(Chrm4)がグレリン分泌抑制に関わることを明らかにした。今回の検討で Chrm4 は Gq にも共役しており、ムスカリン単独ではグレリン分泌に影響はないが、Gs 刺激によるグレリン分泌刺激下においてはムスカリンがその分泌を抑制した。このことから、アドレナリンなどを介したグレリン分泌刺激に対するカウンターとしてのアセチルコリン経路の役割が示唆された。</p> <p>Gq 共役型では、既報のオキシトシン受容体(Oxtr)に加え、上述した Chrm4 を介しムスカリンが細胞内カルシウムを上昇させることを確認した。</p> <p>膵β細胞や腸管内分泌細胞に発現する GPR142 は芳香族アミノ酸がリガンドであると報告されている。トリプトファンは濃度依存的に MGN3-1 細胞からのグレリン分泌を刺激し、この作用は GPR142 をノックダウンすると減弱した。さらに、マウス胃粘膜初代培養細胞においてもトリプトファンはグレリン分泌を刺激した。以上から、GPR142 は、既報にあるインスリンやインクレチン分泌調節に加えグレリン分泌調節にも関わることを示唆された。</p> <p>最後に、Ghrelin プロモーター-CreERT2/CAG-LSL-ZsGreen ダブル Tg マウスを作成し胃グレリン細胞を蛍光ラベルすることにより FACS にて濃縮単離し、上記 GPCR の発現を RNA シークエンスまたは定量 PCR で確認した。</p> <p>本研究により、グレリン細胞には多くの GPCR が発現し、Gs あるいは Gq シグナルを介しグレリン分泌が刺激され、Gi シグナルを介し分泌が抑制されていることを明らかとした。さらに、既知のグレリン調節因子の細胞内シグナルを確認したことに加え、新たに 2 つの因子(PGE2 とトリプトファン)がグレリン分泌調節に関与する可能性を見出した。</p> | | | |

| | | | |
|---|---|---|---|
| <p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>本研究で申請者らはグレリン分泌調節における GPCR の意義を明らかにすることを目的として、グレリン細胞における GPCR 発現の網羅的解析を行った。</p> <p>グレリン分泌細胞株 MGN3-1 における GPCR 発現を RNAseq によって網羅的に解析し、発現上位 12 個の GPCR についてより詳細な検討を行った。</p> <p>また、グレリン細胞が蛍光ラベルされる遺伝子改変マウスを作製し FACS にて胃グレリン細胞を単離し RNAseq 解析することにより、in vivo 胃グレリン細胞との受容体発現の類似性を確認した。</p> <p>MGN3-1 を用いて高発現 GPCR の細胞内シグナルおよびグレリン分泌への影響を検討し、トリプトファンおよびプロスタグランジン E2 がそれぞれ Gpr142、Ptger4 を介してグレリン分泌を刺激すること、ムスカリンが Chrm4 を介し刺激性(Gq)および抑制性(Gi)の作用を有することを新規に見出した。</p> <p>以上の研究は、これまで十分ではなかったグレリン分泌機構の解明につながるものであり、グレリンの病態生理的意義の理解に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 28 年 4 月 1 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p> | | | |
| 要旨公表可能日 | 年 | 月 | 日 |